



# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Medicina I

### ***Neuropad®* como teste de avaliação da função sudomotora na Doença de Fabry – um estudo de prova de conceito**

Filipa Alexandra Rodrigues Fonseca

# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Medicina I

### ***Neuropad<sup>®</sup>* como teste de avaliação da função sudomotora na Doença de Fabry – um estudo de prova de conceito**

Filipa Alexandra Rodrigues Fonseca

**Orientado por:**

Dr. Patrício Ricardo da Terra Aguiar

## **Resumo**

**Introdução:** A doença de Fabry caracteriza-se pela sobrecarga lisossomal secundária à ausência ou deficiência da atividade da enzima  $\alpha$ -galactosidase A, com hereditariedade ligada ao cromossoma X. A hipohidrose é um sintoma frequente e precoce e, ainda, uma causa de morbilidade. Os testes de função sudomotora têm um papel no diagnóstico e no seguimento da progressão da doença, bem como no controlo da resposta à terapêutica. O *Neuropad*® é um teste qualitativo, simples e acessível que avalia a sudorese através da mudança de cor. O *Sudometrics*® consiste num algoritmo que torna o *Neuropad*® um método quantitativo e reproduzível.

**Objetivo:** Determinar se o *Neuropad*® diagnostica as alterações da sudorese e se os resultados obtidos se correlacionam com o questionário de avaliação dos sintomas autonómicos e, também, com variáveis demográficas e de gravidade da doença.

**Métodos:** Tratou-se de um estudo prospetivo, *cross-sectional*, para o qual foram recrutados 15 doentes, nos quais foram aplicados o *Neuropad*® e o questionário de sintomas autonómicos. A alteração da cor foi estimada pelo *Sudometrics*®. As restantes variáveis foram determinadas na avaliação clínica de rotina.

**Resultados:** Nesta população (33,3% do género masculino, com idade mediana de 56 anos) constatou-se uma diminuição da função sudomotora, particularmente no género masculino, embora estes reportassem menos sintomas disautonómicos. Com o aumento da idade, existe, tendencialmente, uma maior sudorese das mãos, contrariamente à dos pés. No fenótipo clássico a sudorese está diminuída relativamente ao fenótipo atenuado. Com o aumento da gravidade da doença e nos doentes sob Terapêutica de Substituição Enzimática os resultados tendem a ser inferiores.

**Conclusões:** A hipohidrose é um sintoma comum e debilitante pelo que são necessários métodos objetivos e acessíveis de avaliação desta manifestação clínica. O *Neuropad*® em associação com o *Sudometrics*® poderão constituir, no futuro, uma ferramenta na marcha diagnóstica e na monitorização da Doença de Fabry.

**Palavras-chave:** Doença de Fabry; Função sudomotora; Hipohidrose; *Neuropad*®; *Sudometrics*®

O trabalho final exprime a opinião do autor e não da FML.

## **Abstract**

**Introduction:** Fabry Disease is an X-linked lysosomal storage disorder characterized by the absence or deficiency of  $\alpha$ -galactosidase A activity. Hypohidrosis is a common and early symptom and, additionally, a cause of morbidity in these patients. Sudomotor functions tests play a role in the diagnosis and follow-up of the disease as well as in the control of response to therapy. *Neuropad*® is a simple and affordable test that gives a qualitative result about sudomotor function, through colour change. *Sudometrics*® is an image analysis algorithm that allows to make the *Neuropad*® a quantitative and reproducible method.

**Aim:** This study aims to determine if *Neuropad*® can constitute a method to evaluate the sudomotor dysfunction and whether the obtained results correlate with the survey of autonomic symptoms and also with demographic and disease severity variables.

**Methods:** This prospective, cross-sectional study included 15 patients, in whom *Neuropad*® and the survey of autonomic symptoms were applied. *Sudometrics*® estimated the percentage of colour change. The remain variables were determined in routine clinical evaluation.

**Results:** In these population (33.3% of the male gender, with a median age of 56 years), there was a decrease in the sudomotor function, particularly in male, despite the reduced report of dysautonomic symptoms. With aging, there is a tendency for greater hand sudomotor function, as opposed to the feet. In the classic phenotype, the sweat ability is decreased when compared to the attenuated phenotype. The results tend to be lower with the increase in disease severity and the use of enzyme replacement therapy.

**Conclusions:** Hypohidrosis is a common and debilitating symptom. Therefore there is a need for objective and accessible methods of evaluation of this clinical manifestation. In the future, *Neuropad*® in combination with *Sudometrics*® may constitute a tool in the diagnosis and monitoring of Fabry Disease.

**Keywords:** Fabry disease; Sudomotor function; Hypohidrosis; *Neuropad*®; *Sudometrics*®.

## **Índice**

Resumo.....	3
<i>Abstract</i> .....	4
Índice de tabelas e figuras.....	7
Abreviaturas e acrónimos.....	8
Introdução .....	9
Definição e epidemiologia.....	9
Hereditariedade .....	9
Manifestações clínicas.....	9
Definição de doença clássica .....	11
Disfunção sudomotora na Doença de Fabry.....	12
Tratamento e a função sudomotora.....	13
Testes de função sudomotora.....	14
Justificação do trabalho/ Objetivos.....	16
Material e Métodos .....	17
População e desenho do estudo.....	17
Critérios de inclusão .....	17
Critérios de exclusão.....	17
Procedimentos.....	18
<i>Neuropad</i> ®.....	18
<i>Sudometrics</i> ® .....	18
Questionário de sintomas autonómicos .....	18
Variáveis de avaliação clínica dos doentes .....	18
Análise estatística .....	19
Resultados .....	20
Características clínicas e demográficas da população.....	20
Avaliação da função sudomotora e sintomas autonómicos .....	21
Correlação da função sudomotora / sintomas autonómicos com aspetos demográficos .....	22
Correlação da função sudomotora / sintomas autonómicos com a gravidade da doença .....	25

Análise de resultados de acordo com utilização de Terapia de Substituição Enzimática .....	28
Discussão.....	29
Conclusões .....	32
Perspetivas futuras .....	32
Agradecimentos.....	33
Bibliografia.....	34
Anexos .....	37
Anexo 1 .....	37
Anexo 2 .....	38

## **Índice de tabelas e figuras**

Tabela 1: Características clínicas e demográficas da população.....	20
Tabela 2: Mutações presentes na população. ....	21
Tabela 3: Avaliação da função sudomotora e de sintomas autonómicos.....	21
Tabela 4: Correlação entre a função sudomotora e a avaliação de sintomas autonómicos. .....	22
Tabela 5: Avaliação da função sudomotora e sintomas autonómicos por género.....	23
Tabela 6: Correlação da função sudomotora e avaliação de sintomas autonómicos com o fenótipo. ....	25
Tabela 7: Correlação da função sudomotora e avaliação de sintomas autonómicos com a gravidade da doença.....	27
Tabela 8: Correlação da função sudomotora e avaliação de sintomas autonómicos com a utilização de TSE.....	28
Figuras 1, 2, 3, 4 e 5: Correlação da função sudomotora e avaliação de sintomas autonómicos com a idade. ....	24
Figuras 6, 7 e 8: Correlação da função sudomotora e avaliação de sintomas autonómicos com a idade.....	26
Figura 8: Análise da gravidade da doença, medida pelo MSSSI, em função sudomotora dos pés. ....	27

### **Abreviaturas e acrónimos**

AGAL-A:  $\alpha$ -galactosidase A

ARA II: Antagonista do recetor da angiotensina II

AVC: Acidente vascular cerebral

BCC: Bloqueadores dos canais de cálcio

DF: Doença de Fabry

DM: Diabetes Mellitus

ESC: Condução eletroquímica na pele

FIP: *Fabry International Prognostic Index*

Gb<sub>3</sub>: Globotriaosilceramida

iECA: Inibidor da enzima conversora da angiotensina

IQR: Interquartile range

Liso-Gb<sub>3</sub>: Globotriaosilesfingosina

MSSI: *Mainz Severity Score Index*

QSART: *Quantitative Sudomotor Axon Reflex Test*

SS: *Symptom score*

TSIS: *Total symptom impact score*

TFGe: Taxa de filtração glomerular estimada

TSE: Terapêutica de substituição enzimática

TST: *Thermoregulatory Sweat Testing*



## **Introdução**

### **Definição e epidemiologia**

A doença de Fabry (DF) é uma doença de sobrecarga lisossomal caracterizada pela ausência ou deficiência da atividade da enzima  $\alpha$ -galactosidase A (AGAL-A)<sup>(1)</sup>. A deficiência enzimática leva à acumulação dos substratos da mesma, nomeadamente dos glicosfingolípidos<sup>(2)</sup>, e sua posterior deposição. É de particular importância a acumulação lisossomal de globotriaosilceramida (Gb<sub>3</sub>). A deposição ocorre numa vasta variedade de células (endoteliais, renais, cardíacas e neuronais) e atua como um desencadeante para múltiplos eventos celulares que culminam na lesão e perda de função orgânicas.

No passado estimava-se que a incidência da DF variava entre 1:117.000 e 1:476.000<sup>(1)</sup>. No entanto, atualmente é reconhecido que este valor é uma subestimativa dado a existência de mutações associadas a fenótipos atenuados<sup>(3)</sup>. Em rastreios em recém-nascidos foi demonstrada uma incidência de até 1:1250 entre recém-nascidos do género masculino<sup>(4)</sup>. Trata-se de uma doença sem predileção por etnias (pan-étnica)<sup>(1)</sup>.

### **Hereditariedade**

Trata-se de um defeito monogénico com um padrão de hereditariedade ligado ao cromossoma X<sup>(1)</sup>. A AGAL-A é codificada pelo gene GLA, localizado no braço longo do cromossoma X (Xq22). Apesar do padrão de hereditariedade típico, as mulheres podem também ser afetadas através da inativação aleatória de um dos cromossomas X (lisonização)<sup>(1)</sup>. Assim, estas apresentam um amplo espectro de manifestações clínicas que está na dependência da proporção de inativação do cromossoma *wild-type*<sup>(5)</sup>.

### **Manifestações clínicas**

A maioria dos pacientes é assintomática nos primeiros anos de vida. Nos doentes com fenótipo clássico, os sintomas surgem, tipicamente, entre os 3 e os 10 anos nos homens e alguns anos mais tarde nas mulheres<sup>(1)</sup>. A DF é fenotipicamente heterogénea, contudo, os homens com atividade enzimática nula apresentam, em geral, o fenótipo clássico ao qual estão associadas manifestações clínicas graves<sup>(4)</sup>. Contrariamente, pacientes com mutações que lhes conferem atividade enzimática residual têm manifestações mais tardias ou fenótipos atenuados. A clínica nas mulheres heterozigóticas é ampla, variando de assintomáticas a mulheres com manifestações

graves semelhantes aos homens com fenótipo clássico<sup>(4)</sup>. O envolvimento de órgãos vitais como o coração e, menos frequentemente, o rim ocorre, aproximadamente, uma década mais tarde relativamente aos homens. Eventos cerebrovasculares, cardíacos e renais ocorrem em 20% das afetadas e a idade mediana do seu aparecimento é de 46 anos<sup>(1)</sup>. Apesar da diferença apresentada, em ambos os géneros a doença evolui progressiva e sistemicamente.

O diagnóstico poderá ser difícil, na medida em que existem doenças mais prevalentes com manifestações semelhantes<sup>(1)</sup> e, também, dado o amplo espectro clínico. Tipicamente, estes pacientes são observados por múltiplas especialidades até serem diagnosticados<sup>(1)</sup>.

No fenótipo clássico, as primeiras manifestações ocorrem na infância<sup>(4)</sup> e, geralmente, correspondem a lesões da pele (angioqueratomas, angiomas e linfedema), alterações da sudorese e acroparestesias<sup>(6)</sup>. Entre 60-80% das crianças com fenótipo clássico<sup>(1)</sup> apresentam dor, que pode ser de dois subtipos: crises de Fabry ou dor crónica<sup>(7)</sup>. Relativamente às crises de Fabry, estas são descritas como uma dor intensa com início nas extremidades dos membros e que irradia proximalmente<sup>(7)</sup>. Estas podem ser desencadeadas por diversos fatores, entre eles febre, fadiga, stress, exercício e grandes amplitudes térmicas<sup>(8)</sup>. A dor crónica ocorre principalmente nas mãos e nos pés e é descrita como um ardor acompanhado de disestesias regionais (acroparestesias)<sup>(7)</sup>. Na maioria dos indivíduos do género masculino, surgem depósitos corneanos<sup>(9)</sup> – *córnea verticillata*, que tipicamente não afetam significativamente a acuidade visual<sup>(1)</sup>. Outras alterações oculares incluem a tortuosidade dos vasos conjuntivais e retinianos e, ainda, cataratas subcapsulares posteriores (“Cataratas de Fabry”) – um sinal ocular patognomónico de DF. A nível auditivo e vestibular, podem surgir precocemente acufenos que podem ser acompanhados de diminuição da acuidade auditiva e vertigens<sup>(1)</sup>. Aproximadamente 40-60% dos doentes referem sintomas cardíacos. As alterações mais comuns são a cardiomiopatia hipertrófica, geralmente não obstrutiva, e disritmias<sup>(5)</sup>, por afeção tanto do nódulo sinusal bem como do sistema de condução<sup>(1)</sup>. Relativamente ao sistema respiratório, apresentam dispneia de esforço, tosse crónica e sibilância. Em testes de função respiratória, a prevalência de padrão obstrutivo foi de 61% em homens e 26% em mulheres<sup>(1)</sup>. A função renal é afetada progressivamente<sup>(5)</sup>, sendo que o sinal mais precoce da sua detioração é o aparecimento de albuminúria A2. Esta está frequentemente presente a partir da segunda ou terceira décadas de vida<sup>(1)</sup>, verificando-se um declínio da taxa de filtração glomerular (TFG) a partir da terceira década de vida. As alterações

neurológicas são secundárias ao envolvimento multifocal de pequenos vasos. Comparativamente à população saudável, verifica-se uma elevada prevalência de acidente vascular cerebral (AVC) nestes indivíduos, sendo os homens (6,9%) mais afetados que as mulheres (4,3%)<sup>(1)</sup>. Em média o primeiro AVC ocorre aos 39 e 46 anos, respetivamente<sup>(1)</sup>. Os sintomas gastrointestinais<sup>(9)</sup> como dor abdominal, diarreia, náuseas e vómitos, iniciam-se, com frequência, na infância e prolongam-se pela vida adulta<sup>(1)</sup>. Uma abordagem holística é particularmente importante nestes doentes, atendendo à elevada prevalência de depressão nesta população (46%), sendo clinicamente grave em 28%<sup>(1)</sup>. As manifestações clínicas supracitadas são uma importante causa de morbilidade e estão associadas à diminuição significativa da qualidade de vida.

Estes pacientes, quando não tratados, têm uma esperança de vida inferior à da população em geral<sup>(10)</sup>, nomeadamente menos 20 e 10 anos em homens e mulheres, respetivamente<sup>(1)</sup>. As principais causas de morte são a doença renal em estágio terminal e a doença cardio e cerebrovascular<sup>(4)</sup> e esta ocorre tipicamente na 6ª década de vida<sup>(11)</sup>.

### **Definição de doença clássica**

Existe um conjunto de critérios que definem a doença clássica. Segundo *van der Tol et al*, nos homens, esta define-se como a confirmação da presença de uma variante no gene GLA condicionando ausência ou diminuição significativa da atividade da AGAL-A, associada a, pelo menos, um dos seguintes: acroparestesias, *córnea verticillata*, angioqueratomas, elevação da globotriaosilesfingosina (liso-Gb3) ou Gb3 plasmáticos ou, ainda, um familiar afetado com um diagnóstico definitivo de acordo com estes critérios<sup>(10)</sup>. Nas mulheres exige a presença de uma variante no gene GLA e um dos seguintes: acroparestesia, *córnea verticillata*, angioqueratoma, elevação da liso-Gb3 ou Gb3 plasmáticos na ordem de grandeza da verificada em homens com fenótipo clássico ou um familiar afetado com um diagnóstico definitivo de acordo com estes critérios<sup>(10)</sup>. Se estes critérios não forem cumpridos e existir suspeita de DF deverá ser investigado o envolvimento específico de órgão. Se porventura ainda existir dúvida deverá ser feita uma biópsia de um órgão afetado que deverá demonstrar acumulação de Gb3.

## **Disfunção sudomotora na Doença de Fabry**

Precocemente, os doentes apresentam-se com diminuição (hipohidrose) ou ausência (anidrose) de sudorese<sup>(1)</sup>. Assim, na presença desta característica a DF deverá ser incluída no diagnóstico diferencial<sup>(12)</sup>. A hipohidrose é o segundo sintoma mais comumente reportado pelos doentes<sup>(6)</sup>, embora a sua ausência não seja sinónimo de função sudomotora intacta<sup>(12)</sup>. Um diagnóstico precoce é fundamental para um início, também este precoce, da terapêutica de substituição enzimática (TSE), preferencialmente antes da presença de complicações. Adicionalmente, existe um intervalo temporal entre o início da terapêutica e a melhoria sintomática. Existem testes de função sudomotora que reconhecem esta melhoria antes da mesma ser clinicamente evidente<sup>(12)</sup>.

A hipohidrose é bastante comum em crianças afetadas do género masculino (93%) e ocorre com menos frequência nas do género feminino (25%)<sup>(13)</sup>.

À inspeção, os doentes frequentemente apresentam secura das palmas das mãos e plantas dos pés<sup>(6)</sup>. Objetivamente, a função sudomotora é avaliada através de testes que serão posteriormente descritos.

A regulação da temperatura é indispensável para a homeostasia, e está na dependência da capacidade de suar. Portanto, a disfunção sudomotora, que é característica da DF, é causa de morbidade nestes doentes, tornando-os incapazes de tolerar o aumento de temperatura e o exercício<sup>(14)</sup>. Acresce ainda o facto de alguns doentes poderem apresentar hiperpirexia na ausência de infeção.

Existem duas hipóteses para a fisiopatologia da disfunção sudomotora. A hipohidrose poderá ser explicada pela lesão das glândulas sudoríparas écrinas secundária à deposição de Gb<sub>3</sub><sup>(15)</sup> ou pela neuropatia de pequenas fibras<sup>(12)</sup>.

Esta neuropatia afeta principalmente as pequenas fibras mielinizadas (A-δ) e as não mielinizadas (C)<sup>(14)</sup>. A sua fisiopatologia ainda não é conhecida, contudo, foram propostos diversos mecanismos, nomeadamente a isquémia secundária à deposição de Gb<sub>3</sub> nos *vasa nervorum*, disfunção nervosa intrínseca<sup>(14)</sup> e, ainda, deposição de Gb<sub>3</sub> nos gânglios dorsais medulares<sup>(2)</sup>. Biópsias de pele de pacientes mostraram perda substancial de fibras C<sup>(2)</sup> e conservação da maioria das grandes fibras mielinizadas<sup>(14)</sup>. Complementarmente, a redução da sudorese com a preservação da resposta simpática à inspiração profunda e redução da resposta à capsaicina são também compatíveis com a disfunção das fibras C<sup>(2)</sup>. Assim, a manutenção das respostas simpáticas sugere que a hipohidrose não se relaciona com a disfunção autonómica.

Relativamente às glândulas sudoríparas, foi demonstrado que não existe diminuição da densidade de inervação das mesmas ou do seu número. Nas biópsias efetuadas, foram identificadas inclusões lipídicas nestas glândulas, predominantemente nas células mioepiteliais<sup>(14)</sup>.

Consequentemente, o mecanismo que aparenta ser predominante na DF é a disfunção das glândulas sudoríparas secundária à deposição de Gb<sub>3</sub>. Esta hipótese é sustentada pela rápida melhoria funcional após o início do tratamento<sup>(14)</sup>, provavelmente por *clearance* metabólica dos depósitos e não pela recuperação funcional de fibras nervosas<sup>(2)</sup>.

### **Tratamento e a função sudomotora**

Atualmente, os *gold standard* no tratamento são a TSE e a terapêutica com *chaperones*, em associação com adjuvantes terapêuticos<sup>(1)</sup>. A abordagem multidisciplinar é absolutamente fundamental no tratamento da DF.

Os sintomas são controlados com terapêutica farmacológica e alteração do estilo de vida<sup>(1)</sup>. A frequência das crises de Fabry pode ser diminuída com a evicção dos fatores precipitantes mencionados anteriormente. Para controlo farmacológico da dor são utilizados fármacos anticonvulsivantes, como a gabapentina ou a pregabalina<sup>(1)</sup>. Em relação à cardiomiopatia, encontram-se preconizados os fármacos que diminuem o *remodelling* ventricular, bem como o tratamento das arritmias de acordo com as recomendações internacionais ou a utilização de dispositivos usados na prevenção da morte súbita cardíaca. Relativamente à nefropatia, está indicada a terapêutica antiproteinúrica com um inibidor da enzima conversora da angiotensina (iECA) ou, alternativamente, com um antagonista do recetor da angiotensina II (ARA II)<sup>(16)</sup>.

A TSE e os *chaperones* (migalastat) são as únicas terapêuticas que atuam no defeito enzimático. A nível europeu encontram-se aprovadas duas opções de TSE com  $\alpha$ -galactosidase recombinante: agalsidase  $\alpha$  (produzida por ativação génica em linhagem celular de fibroblastos humanos) e  $\beta$  (produzida por técnica de DNA recombinante em linhagem celular de ovário de hamster chinês)<sup>(1)</sup>.

Estudos comprovaram que a TSE é capaz de melhorar a função sudomotora<sup>(12)</sup> e, portanto, a resposta à terapêutica correlaciona-se com a capacidade de suar. Foi demonstrada a persistência de melhoria da função sudomotora durante 7 dias após a terapêutica a longo prazo com agalsidase  $\alpha$ <sup>(17)</sup>. Existe, também, uma tendência para o aumento do volume do suor com o aumento da frequência de administração de agalsidase  $\alpha$  (bissemanal) contudo verifica-se, simultaneamente, um aumento da latência do início

dos efeitos esperados<sup>(18)</sup>. Em crianças com doença de Fabry verificou-se que o volume de suor aumentava em função da duração do tratamento com agalsidase  $\alpha$ <sup>(19,20)</sup>.

### Testes de função sudomotora

O papel dos testes de função sudomotora na DF compreende o diagnóstico e a monitorização da progressão da doença. Os métodos clássicos são dispendiosos, morosos, tecnicamente complexos e requerem equipamentos e condições de trabalho que não estão amplamente disponíveis na prática clínica<sup>(21)</sup>.

O TST (*Thermoregulatory Sweat Testing*) consiste num método de avaliação da função sudomotora regulada pela via central e periférica. Procede-se ao aumento da temperatura (45-50°C) e humidade relativa (35-40%) ambientais<sup>(22)</sup>. O indivíduo a avaliar encontra-se em posição supina sobre uma mesa com um indicador de pH que, na presença de suor (pH 4.5-5.5), muda de cor, de amarelo para vermelho-escuro<sup>(22)</sup>. A temperatura é medida tanto na boca como na pele. A média da temperatura da pele é mantida entre os 38.5-39.5°C<sup>(22)</sup>. A temperatura medida na boca deverá subir pelo menos 1°C do basal ou até aos 38°C<sup>(22)</sup>. O máximo de sudorese ocorre entre os 30-65min<sup>(22)</sup>. O resultado é fotografado, e, posteriormente, um mapa digital de densidade de suor é gerado, sendo os resultados expressos em TST% (área de anidrose/área corporal total x 100)<sup>(22)</sup>. Este teste permite por um lado, avaliar a simetria e, por outro, nos padrões de sudorese alterados, avaliar a localização das áreas de anidrose. Tem, também, como vantagem o facto de apresentar resultados numa variável contínua, que poderão ser utilizados para correlacionar, de uma forma objetiva, a função sudomotora com outras variáveis clínicas. Pelo descrito anteriormente, este exame requer condições de trabalho específicas, amplas e é demorado, pelo que se trata de uma forma complexa de avaliar a sudorese.

O QSART (*Quantitative Sudomotor Axon Reflex Test*) é um dos métodos clássicos que avalia a resposta axonal reflexa das fibras sudomotoras periféricas<sup>(2)</sup>. As glândulas sudoríparas são estimuladas por um agente colinérgico (acetilcolina), através de iontoforese, e a resposta é medida por um higrómetro, que avalia a variação da humidade local, até 5 minutos após o alcance de uma *baseline*. Quando a estimulação é interrompida, o registo de humidade mantém-se durante 15 minutos<sup>(22)</sup>. Uma cápsula multicompartimentalizada faz tanto a estimulação como o registo. O *output* de suor é medido através da variação de humidade na cápsula. Este teste permite uma avaliação quantitativa da produção de suor e da respetiva latência<sup>(14)</sup> com elevada sensibilidade e

especificidade<sup>(18)</sup>. No entanto, trata-se de um processo complexo, que exige equipamentos que não estão facilmente disponíveis<sup>(12)</sup>.

O método *Silicone Impressions* mede a resposta sudomotora através da estimulação de glândulas sudoríparas por iontoforese, com acetilcolina, durante 5 minutos<sup>(22)</sup>. Após o estímulo é aplicada uma camada de silicone moldável sobre a pele do local em questão, que é removida após 5 minutos<sup>(22)</sup>. As gotas de suor em contacto com este material deixam impressões permanentes que podem ser quantificadas e analisada a sua distribuição com a utilização de um microscópio ótico ou de um algoritmo computacional<sup>(22)</sup>. O número, tamanho e distribuição são analisados e o volume de suor calculado a partir destes<sup>(22)</sup>. Esta metodologia apesar de simples, tem como limitação principal o risco de artefactos<sup>(22)</sup>. Todo o procedimento tem de ser realizado com recurso a luvas. Previamente deverá ser confirmado se estas não reagem com o material aplicado.

O *Sudoscan*® é um teste não invasivo, rápido e que permite, igualmente, uma avaliação quantitativa da função sudomotora. Quando o suor entra em contacto com os elétrodos, os iões cloreto reagem com o aço inoxidável presente nos mesmos. É atualmente utilizado na Diabetes Mellitus (DM) no diagnóstico de neuropatia periférica e na monitorização da sua evolução<sup>(12)</sup>. Os resultados são expressos como condução eletroquímica na pele (ESC,  $\mu\text{S}$ )<sup>(12)</sup>. Também é um método que exige equipamento que apenas está disponível em alguns centros especializados.

O *Neuropad*® consiste num teste qualitativo, que identifica o suor através de uma mudança de cor<sup>(22)</sup>, de azul para cor-de-rosa, num composto de cobalto II<sup>(23)</sup>. Tem como vantagens a rapidez, acessibilidade e a simplicidade. Todavia, é pouco específico na discriminação de pequenas mudanças de cor<sup>(23)</sup> dado que se trata de uma avaliação subjetiva que está sujeita a variabilidade intra e inter-observador<sup>(24)</sup>. Os resultados são expressos em três categorias: normal, intermédio ou anómalo. O *Sudometrics*® é um algoritmo de análise de imagens que torna o *Neuropad*® um método quantitativo<sup>(24)</sup> e reproduzível. Proporciona a quantificação do suor como uma variável contínua (entre 0 e 100%)<sup>(24)</sup>. Comparativamente ao *Sudoscan*®, o *Neuropad*® é mais económico e acessível.

Adicionalmente, importa referir que todos os testes anteriormente referidos têm fatores de confundimento. Tome-se como exemplos a temperatura ambiente, o estado de hidratação e a aplicação prévia de cremes<sup>(22)</sup>.

### **Justificação do trabalho/ Objetivos**

Este trabalho tem como intuito determinar se o *Neuropad*® pode constituir um método válido de avaliação da função sudomotora na DF. Assim sendo, os objetivos deste trabalho são:

1. Determinar se o *Neuropad*® permite o diagnóstico das alterações da função sudomotora na DF;
2. Correlacionar os resultados do *Neuropad*® com o questionário de avaliação dos sintomas autonómicos (anexo 1);
3. Relacionar os resultados obtidos com variáveis demográficas e de gravidade, especificamente:
  - 3.1. Idade e género do paciente;
  - 3.2. Mutação associada a fenótipo clássico vs atenuado;
  - 3.3. TSE;
  - 3.4. *Score* de gravidade: Mainz Severity Score Index (MSSI);
  - 3.5. TFG estimada (TFGe).



## **Material e Métodos**

### **População e desenho do estudo**

Tratou-se de um estudo *cross-sectional*, prospetivo e do tipo de teste de diagnóstico.

A população deste estudo consistiu em 15 doentes com doença de Fabry recrutados na consulta de Doenças Metabólicas do Serviço de Medicina I do Centro Hospitalar Lisboa Norte, EPE em Lisboa. O recrutamento decorreu entre 29 de Janeiro e 3 de Abril de 2018 e foi realizado de forma consecutiva até atingir o número pré-especificado de doentes.

Dada a raridade da doença, no cálculo do tamanho da amostra não foram considerados aspetos relacionados com os resultados expectáveis, mas sim o número potencial de doentes recrutáveis de acordo com a *timeline* do projeto.

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética do mesmo centro e segue as normas de investigação clínica do Acordo de Helsínquia; todos os doentes foram recrutados apenas após terem sido devidamente esclarecidos sobre os objetivos do projeto e assinarem o consentimento informado.

### **Critérios de inclusão**

- Diagnóstico de DF por níveis baixos de  $\alpha$ -galactosidase sérica e/ou identificação de uma mutação patogénica no gene GLA em homens;
- Diagnóstico de DF por identificação de uma mutação patogénica no gene GLA em mulheres;
- Idade igual ou superior a dezoito anos;

### **Critérios de exclusão**

- Diabetes;
- Amiloidose;
- Alcoolismo;
- Doença hepática crónica;
- Gravidez;
- Doença renal crónica de outra etiologia para além da DF;
- Utilização de fármacos anticolinérgicos.

## Procedimentos

### ***Neuropad®:***

Os doentes permaneceram durante 10 minutos numa divisão com temperatura controlada, entre 20 e 25°C, para a aclimatização. Os *Neuropads®* (Neuropad UK, Reino Unido, Lotes A1991871 e A1995166) foram aplicados nas mãos (eminência tenar) e nos pés (face plantar do 1º metatarso) e removidos após 10 minutos. Os *patches* foram digitalizados em alta resolução (300 dpi) com a utilização de um *scanner* (Konica Minolta – bizhub 4050).

### ***Sudometrics®:***

A percentagem de alteração da cor foi estimada pelo *Sudometrics®*, propriedade da Universidade de Manchester. A licença de utilização para fins de investigação foi requerida *online* ([https://www.click2go.umip.com/i/s\\_w/Sudometrics.html](https://www.click2go.umip.com/i/s_w/Sudometrics.html)). O algoritmo baseia-se na análise da intensidade de cor-de-rosa<sup>(24)</sup> e gera a percentagem após *upload* da imagem que se obteve através do *scanner*.

### **Questionário de sintomas autonómicos:**

Posteriormente, foi aplicado o questionário de sintomas autonómicos (anexo 1), cujo objetivo é avaliar a presença destes sintomas e inclui 11 e 12 itens aplicados em mulheres e homens, respetivamente<sup>25</sup>. É questionada a existência de cada um dos sintomas nos últimos seis meses e, caso a resposta seja afirmativa, o doente classifica entre 1 (sem gravidade) e 5 (muito grave) o impacto do mesmo. Este questionário foi avaliado e validado em inglês e, dada a população portuguesa deste estudo, foi traduzido para português. O *score* de sintomas (SS) é calculado somando o número de sintomas que o doente identifica como presentes nos últimos 6 meses e varia entre 0-12 em homens e 0-11 em mulheres<sup>25</sup>. O *score* de impacto dos sintomas (TSSI – *total symptom impact score*) corresponde à soma de todas as classificações (1-5) de cada sintoma positivo e varia entre 0-60 em homens e 0-55 em mulheres<sup>25</sup>.

### **Variáveis de avaliação clínica dos doentes:**

A avaliação clínica de rotina da DF foi realizada no dia da realização do teste (*Neuropad®*) e os resultados registados no formulário em anexo (anexo 2). Em todos os doentes recrutados, através de questionário direto ou da consulta do processo clínico, foram recolhidas as seguintes variáveis: idade do diagnóstico, atividade da AGAL-A,

mutação GLA, HbA1c, TFG, MSSI<sup>26</sup>, FIPF<sup>27</sup>, utilização de TSE e, ainda, medicação habitual.

### **Análise estatística**

A análise estatística foi realizada com o software SPSS® (*Statistical Package for the Social Sciences, version 24*). As variáveis contínuas foram expressas como mediana e intervalo interquartil (IQR) e as categóricas como número absoluto e percentagem.

Em virtude da reduzida dimensão da população na análise estatística foram utilizados testes não paramétricos, assumindo que a distribuição da maioria das variáveis não seria normal. Por conseguinte, para as variáveis contínuas, a comparação das médias/medianas foi efetuada pelos testes de *Mann-Whitney* ou *Wilcoxon signed rank* para as variáveis emparelhadas. Quando a variável qualitativa apresentava mais do que duas categorias foi utilizado o teste de *Kruskal-Wallis*.

Na avaliação da correlação entre os resultados dos procedimentos aplicados e as variáveis quantitativas foi utilizado o coeficiente de correlação de *Spearman* e o resultado apresentado em diagramas de dispersão.

Para todas as comparações e correlações um valor de probabilidade  $< 0,05$  foi considerado como estatisticamente significativo.

## **Resultados**

### **Características clínicas e demográficas da população**

Entre 29 de Janeiro e 3 de Abril de 2018 foram recrutados 15 doentes de 8 famílias diferentes. As características clínicas e demográficas da população estão indicadas na tabela 1. Dos 15 doentes incluídos neste estudo, 10 eram do género feminino e 5 do masculino. Destes, apenas 5 se encontravam sob TSE. A mediana da idade foi de 56 anos e o tempo desde o diagnóstico foi de 4 anos. Relativamente ao score de gravidade MSSI, a mediana foi de 15. A mediana da TFG<sub>e</sub> foi de 101 mL/min.

*Tabela 1: Características clínicas e demográficas da população.*

	Grupo DF
<b>Variáveis categóricas (n (%))</b>	
Género (feminino)	10 (66,7)
TSE (sim)	5 (33,3)
<b>Variáveis contínuas (mediana (IQR))</b>	
Idade (anos)	56 (30)
Tempo desde o diagnóstico (anos)	4 (8)
MSSI	15 (16)
TFG <sub>e</sub> (mL/min)	101 (14)

*DF, Doença de Fabry; IQR, interquartile range; MSSI, Mainz Severity Score Index; TFG<sub>e</sub>, Taxa de filtração glomerular estimada; TSE, Terapêutica substituição enzimática.*

Entre os doentes, 7 apresentavam fenótipo clássico (5 do género feminino e 2 do masculino) e os restantes 8 o fenótipo atenuado (3 do género masculino e 5 do género feminino). As mutações dos doentes encontram-se descritas na tabela 2. A mutação p.F113L correlaciona-se com a presença de um fenótipo atenuado com envolvimento cardíaco predominante.

Tabela 2: Mutações presentes na população.

Mutação	n (%)
p.Arg342Pro	2 (13,3)
p.C52G	1 (6,7)
p.C63S	1 (6,7)
p.F113L	8 (53,3)
p.G35E	3 (20)

### Avaliação da função sudomotora e sintomas autonómicos

Quanto aos resultados da avaliação da função sudomotora com o *Neuropad*® (tabela 3), verificou-se que a mediana nas mãos foi de 22,69%, enquanto que nos pés foi de 60,97%, sendo que a mediana das quatro extremidades foi de 51,63%. Relativamente ao questionário de sintomas autonómicos, a mediana do SS foi de 3 e do TSIS de 9.

Tabela 3: Avaliação da função sudomotora e de sintomas autonómicos.

	Grupo DF
<b>Avaliação sudomotora (mediana (IQR))</b>	
Mãos (%)	22,69 (87,88)
Pés (%)	60,97 (69,43)
Média dos 4 membros (%)	51,63 (49,56)
<b>Avaliação de sintomas autonómicos (mediana (IQR))</b>	
SS	3 (3)
TSIS	9 (11)

DF, Doença de Fabry; IQR, Interquartile range; SS, Symptom Score; TSIS, Total Symptom impact score.

Constatou-se uma correlação forte e estatisticamente significativa entre os resultados em ambas as mãos ( $p=0,770$ ;  $p=0,001$ ) e pés ( $p=0,814$ ;  $p<0,001$ ) e embora não se tenha detetado uma diferença significativa entre a média dos membros superiores e inferiores ( $p=0,394$ ). A correlação entre os resultados nas mãos e nos pés foi fraca e sem significância estatística ( $p=0,279$ ;  $p=0,314$ ).

Em relação à correlação da função sudomotora com a avaliação de sintomas autonómicos (tabela 4), não existe evidência estatística relativamente à correlação entre os resultados obtidos na aplicação do *Neuropad*® com os do questionário de sintomas autonómicos.

*Tabela 4: Correlação entre a função sudomotora e a avaliação de sintomas autonómicos.*

Função sudomotora	Avaliação de sintomas autonómicos	
	SS	TSIS
Mãos (%)	0,176 (0,530)	0,280 (0,312)
Pés (%)	0,112 (0,692)	0,065 (0,819)
Média dos 4 membros (%)	0,100 (0,723)	0,206 (0,461)

*Os valores são expressos em rho (p value). SS, Symptom Score; TSIS, Total Symptom impact score.*

Na sub-análise exploratória dos sintomas apenas relativos à sudorese no questionário de sintomas autonómicos, particularmente hipohidrose nos pés e hipohidrose nos pés com exercício, não se demonstrou uma diferença significativa nos resultados do *Neuropad®* entre os doentes que reportavam ou não estes sintomas, quer na hipohidrose nos pés ( $p=0,295$ ) quer na hipohidrose nos pés com exercício ( $p=1,000$ ).

#### **Correlação da função sudomotora / sintomas autonómicos com aspetos demográficos**

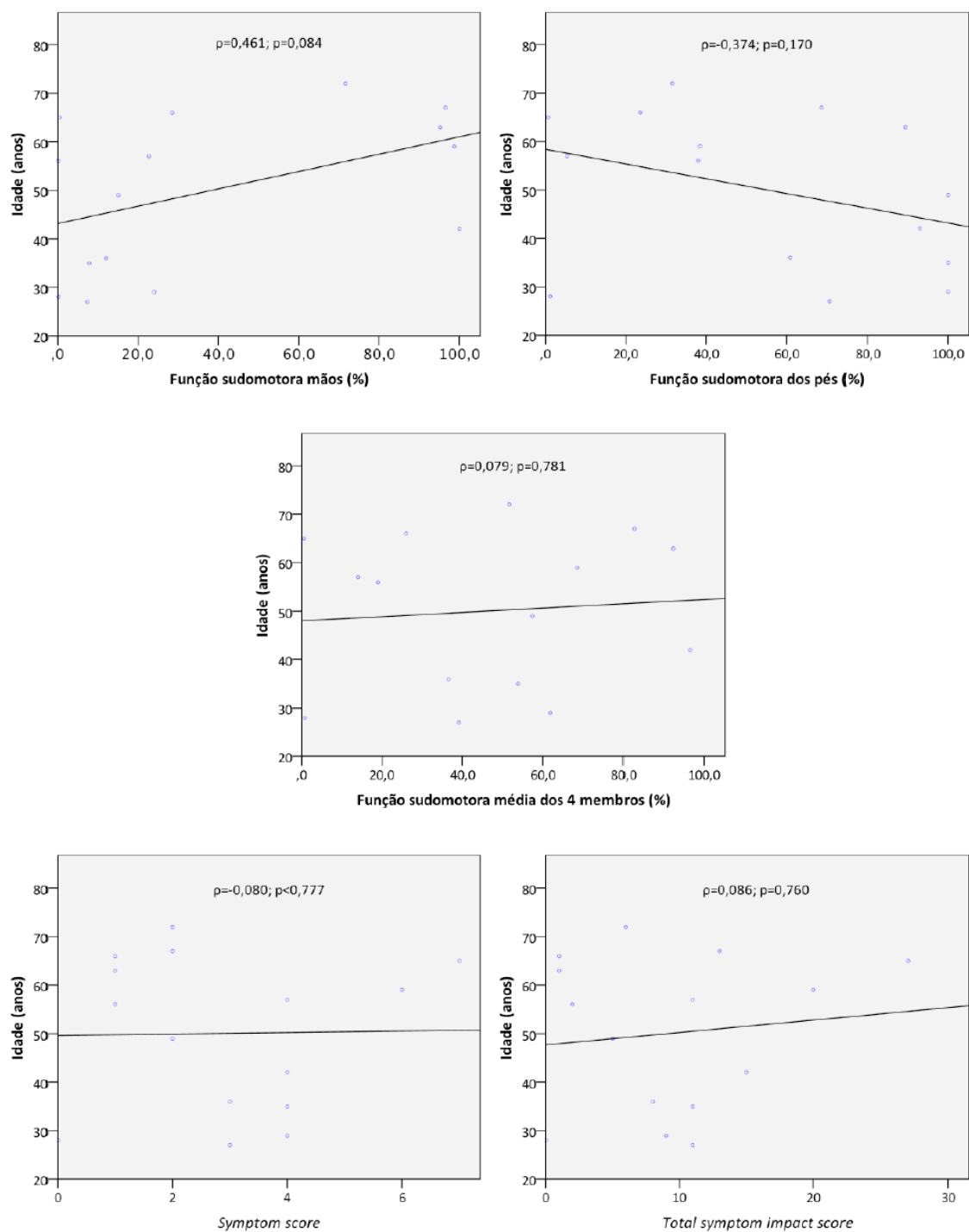
Relativamente ao género (tabela 5), não existiram diferenças estatisticamente significativas quando analisadas as médias das mãos ( $p=0,206$ ), pés ( $p=0,310$ ), e a dos quatro membros ( $p=0,165$ ). Contudo, em todos os anteriores, existe uma clara tendência para a sudorese ser menor no género masculino. No que concerne ao questionário de sintomas autonómicos, no SS apesar de não ser clinicamente significativa ( $p=0,055$ ), existe maior propensão no género feminino para o relato de sintomas. As mulheres apresentaram TSIS significativamente mais elevados e, por isso, os sintomas autonómicos relatados aparentam ter maior impacto.

*Tabela 5: Avaliação da função sudomotora e sintomas autonómicos por género.*

Variável	Género		<i>p value</i>
	Feminino	Masculino	
Mãos (%)	23,32(86,26)	7,78 (49,94)	0,206
Pés (%)	69,72 (64,63)	31,57 (56,6)	0,310
Média dos 4 membros (%)	69,74 (54,18)	26,04(42,89)	0,165
SS	3,5 (3)	1 (3)	0,055
TSIS	11 (9)	2 (8)	0,04

*Os valores são expressos como mediana (IQR). IQR, Interquartile range; SS, Symptom Score; TSIS, Total Symptom impact score.*

Na análise da correlação da avaliação da função sudomotora com a idade constata-se (figura 1) que à medida que a idade aumenta existe uma tendência para a maior função sudomotora das mãos, contrariamente à dos pés. Assim, na média dos membros não aparenta existir uma variação conforme a idade. Ao analisar os resultados obtidos e a idade verificou-se que não existe correlação entre estas duas variáveis [mãos ( $p=0,084$ ), pés ( $p=0,170$ ), média dos 4 membros ( $p=0,781$ )].



Figuras 1, 2, 3, 4 e 5: Correlação da função sudomotora e avaliação de sintomas autonómicos com a idade.



### Correlação da função sudomotora / sintomas autonómicos com a gravidade da doença

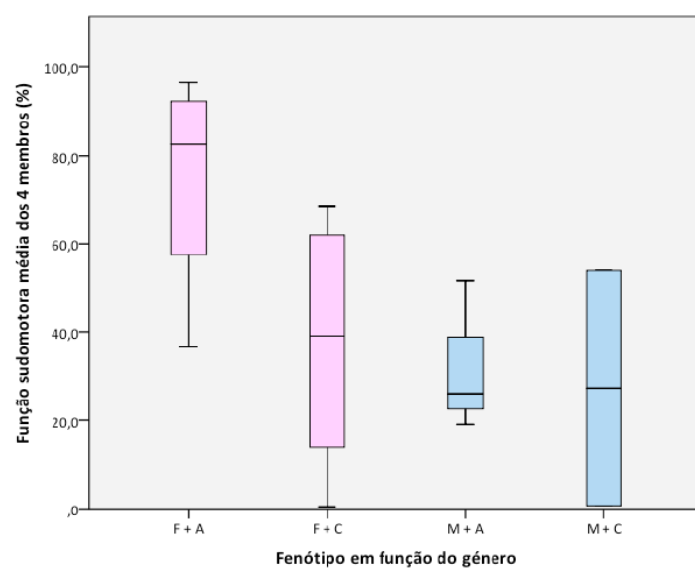
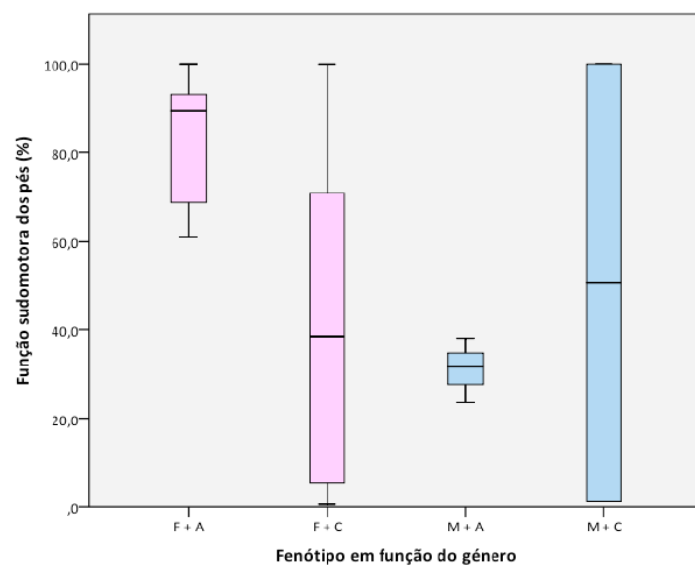
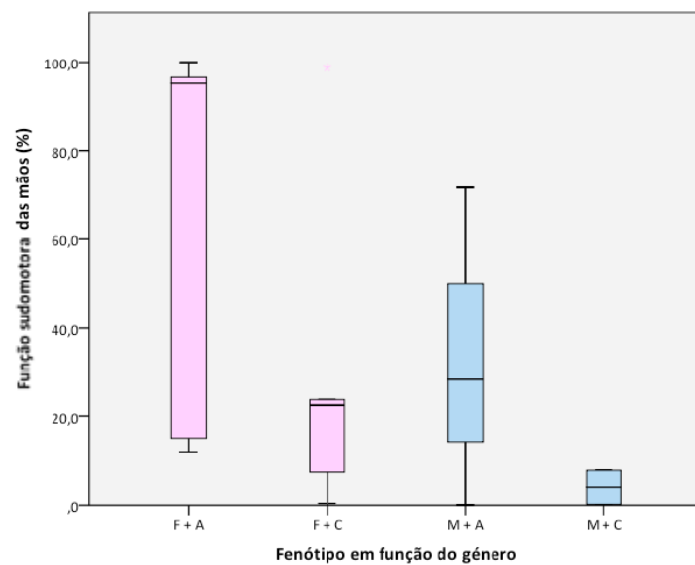
Na tabela 6, verifica-se que os doentes que apresentam um fenótipo clássico apresentaram resultados de função sudomotora inferiores aos do fenótipo atenuado apesar de esta diferença não ser significativa [mãos ( $p=0,232$ ), pés ( $p=0,536$ ), média dos 4 membros ( $p=0,232$ )]. Em relação ao SS e TSIS os primeiros apresentam *scores* superiores comparativamente aos doentes com fenótipo atenuado [SS ( $p=0,054$ ), TSIS ( $p=0,0,189$ )].

*Tabela 6: Correlação da função sudomotora e avaliação de sintomas autonómicos com o fenótipo.*

Variável	Fenótipo		<i>p value</i>
	Clássico	Atenuado	
Mãos (%)	7,78 (23,54)	52,38 (83,46)	0,232
Pés (%)	38,43 (98,77)	63,16 (58,96)	0,536
Média dos 4 membros (%)	39,07 (61,26)	54,57 (61,25)	0,232
SS	4 (3)	2 (2)	0,054
TSIS	11 (11)	5,50 (11)	0,189

*Os valores são expressos como mediana (IQR). IQR, Interquartile range; SS, Symptom Score; TSIS, Total Symptom impact score.*

Na sub-análise exploratória por fenótipo em função do género (figura 2) constata-se uma notória diferença na avaliação da função sudomotora nas mulheres com fenótipo atenuado e os restantes subgrupos, com maior percentagem de sudação no primeiro grupo. Esta análise é limitada pelo número muito reduzido de doentes em cada um dos subgrupos.



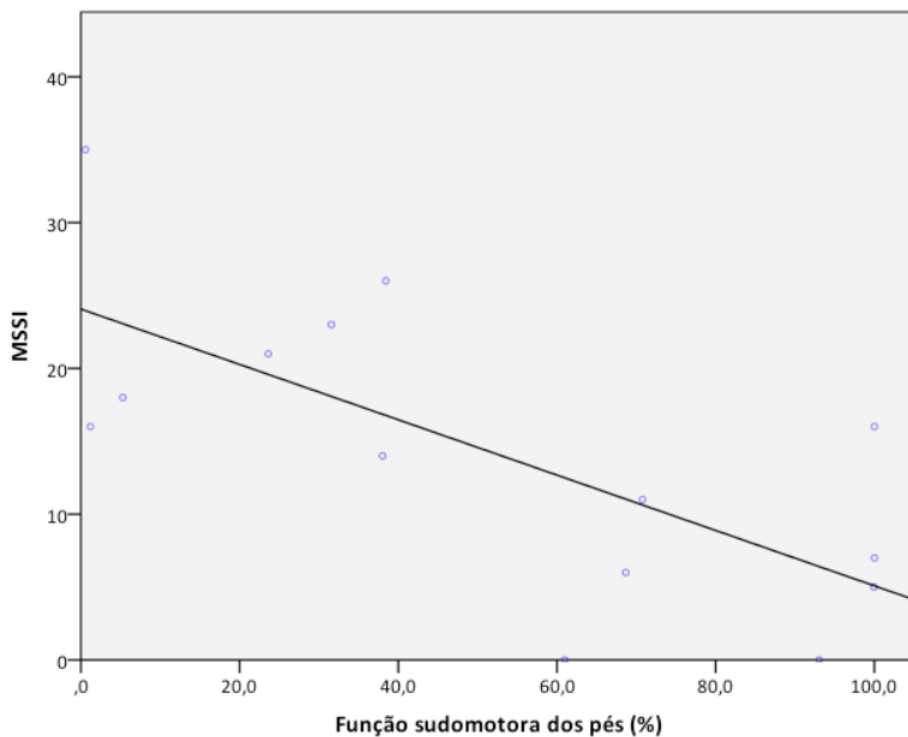
Figuras 6, 7 e 8: Análise da função sudomotora e fenótipo, em função do género.

Analisando a função sudomotora em função da gravidade da doença (tabela 7), verifica-se que aparenta existir uma tendência da função sudomotora diminuir à medida que a gravidade aumenta. Existindo, uma correlação inversa, estatisticamente significativa, entre a sudação dos pés e a gravidade da doença. A escala de gravidade também se relaciona positivamente, embora de forma fraca e não estatisticamente significativa, com a escala de sintomas autonómicos relatados pelos doentes. A TFGe não apresenta uma correlação evidente e consistente relativamente ao presente estudo.

*Tabela 7: Correlação da função sudomotora e avaliação de sintomas autonómicos com a gravidade da doença.*

	MSSI	TFGe
Mãos (%)	-0,106 (0,719)	-0,198 (0,497)
Pés (%)	-0,647 (0,012)	0,407 (0,148)
Média dos 4 membros (%)	-0,476 (0,086)	0,123 (0,675)
SS	0,151 (0,605)	0,088 (0,764)
TSSI	0,095 (0,746)	-0,073 (0,804)

*Os valores são expressos em rho (p value). MSSI, Mainz Severity Score Index; SS, Symptom Score; TFGGe, Taxa de filtração glomerular estimada; TSIS, Total Symptom impact score.*



*Figura 9: Análise da gravidade da doença, medida pelo MSSI, em função sudomotora dos pés. MSSI, Mainz Severity Score Index.*

### **Análise de resultados de acordo com utilização de Terapia de Substituição Enzimática**

A função sudomotora dos doentes que estão sob TSE tem uma clara tendência a ser menor, embora esta diferença não seja estatisticamente significativa [mãos ( $p=0,310$ ), pés ( $p=0,099$ ), média dos 4 membros ( $p=0,075$ )]. Quanto à referência a sintomas autonómicos e o seu respetivo impacto não existiram diferenças significativas [SS ( $p=0,679$ ), TSIS ( $p=0,513$ )], no entanto os doentes que estão sob TSE aparentam relatar menos sintomas comparativamente aos que não estão sob terapêutica específica.

*Tabela 8: Correlação da função sudomotora e avaliação de sintomas autonómicos com a utilização de TSE.*

Variável	TSE		<i>p value</i>
	Não	Sim	
Mãos (%)	23,31 (86,26)	7,78 (49,77)	0,310
Pés (%)	69,72 (56,45)	23,61 (64,90)	0,536
Média dos 4 membros (%)	59,74 (52,91)	26,10 (52,17)	0,099
SS	3 (2)	2 (5)	0,054
TSIS	10 (9)	6 (19)	0,075

*Os valores são expressos como mediana (IQR). IQR, Interquartile range; SS, Symptom Score; TSE, Terapêutica de substituição enzimática; TSIS, Total Symptom impact score.*

## **Discussão**

A hipohidrose e anidrose são uma manifestação clínica comum da DF. Estudos anteriores que compararam estes doentes a controlos saudáveis verificaram, recorrendo a métodos de avaliação *standard*, que a função sudomotora se encontra diminuída nestes doentes<sup>(12)</sup>. Neste estudo, o *Neuropad*® teve capacidade de detetar a diminuição da função sudomotora nos doentes. Verificou-se, também que os resultados de ambas as mãos se correlacionavam, bem como os dos pés. Na DM o *Neuropad*® demonstrou ter sensibilidade para detetar neuropatia de pequenas fibras, quando comparado com técnicas *standard* de avaliação da mesma<sup>(21)</sup>. Nesta patologia verificou-se também que o *Sudometrics*® ampliou a especificidade do *Neuropad*®<sup>(24)</sup>. Na DF, o *Neuropad*® ainda não provou ser um método válido de avaliação da função sudomotora, pelo que existe necessidade de compará-lo com métodos *standard*.

A ausência de correlação entre a disfunção sudomotora e os sintomas de disfunção autonómica corroboram a hipótese de que esta seja secundária à deposição de Gb3 nas glândulas sudoríparas.

Dado que a DF apresenta um padrão de hereditariedade ligado ao cromossoma X e pelo facto de as mulheres afetadas apresentarem um fenótipo mais atenuado esperar-se-ia que a função sudomotora, neste estudo avaliada através do *Neuropad*®, apresentasse uma diferença entre os géneros. Apesar de não ser significativa, existe uma clara tendência de os homens apresentarem menor função sudomotora, o que está de acordo com a literatura previamente publicada<sup>(6)</sup>. Adicionalmente, apresentam no questionário de sintomas autonómicos *scores* superiores aos dos homens. Assim, aparenta existir uma discrepância entre o relato de sintomas e medidas quantitativas de sudorese. Na DM, o questionário de sintomas autonómicos demonstrou ser sensível e ter correlação com os métodos de avaliação *standard* na função sudomotora. No entanto, este questionário apresenta também sintomas que não estão relacionados diretamente com a função sudomotora e que se relacionam com a neuropatia presente nesta doença. Este facto motivou a sub-análise dos sintomas do questionário apenas relacionados com a sudorese, contudo não se verificou uma correlação entre a sua presença e os resultados do *Neuropad*®. Adicionalmente, a subjetividade inerente a um questionário corrobora a necessidade de existirem métodos específicos e quantitativos de avaliação da função sudomotora nestes doentes.

A DF constitui um distúrbio metabólico cujo mecanismo é a acumulação de Gb3 e, por isso, esperar-se-ia que agravasse com a idade. De acordo com a literatura publicada, a disfunção sudomotora tende a ser um sintoma precoce<sup>12</sup> nestes doentes e que, geralmente, agrava com a idade<sup>2</sup>. Contudo, no presente estudo, não foi demonstrada uma correlação entre a idade e a função sudomotora.

O fenótipo clássico da DF está associado a manifestações clínicas mais precoces e graves. Neste estudo verificou-se que doentes clássicos aparentam ter menor função sudomotora, estando, assim, em estreita correlação com o apreciado na prática clínica. O subgrupo de mulheres com um fenótipo atenuado demonstra, notoriamente, uma capacidade de suor mais preservada.

Quando analisada a gravidade, através do MSSI, verifica-se que existe uma correlação inversa com os resultados apresentados, o que demonstra que os doentes com uma maior expressão fenotípica da doença são também os mais afetados pela disfunção sudomotora. Consequentemente, a hipohidrose aparenta ser uma manifestação associada a doença mais severa.

No presente estudo não existiu uma correlação dos resultados com a TFG<sub>e</sub>, assim sendo, a disfunção autonómica secundária à doença renal crónica não parece ser o mecanismo da disfunção sudomotora nestes doentes.

Relativamente à TSE, os doentes com indicação são genericamente os que apresentam uma maior expressão fenotípica da doença. Na análise destes doentes verificou-se uma tendência a apresentarem valores inferiores de sudorese, pelo que está de acordo com a observação anterior. Concomitantemente, existem estudos que sugerem que em adultos com DF avançada e, portanto, com lesão de órgão irreversível, a TSE poderá ter eficácia limitada<sup>(17)</sup>. Apesar disso, a literatura demonstra que a TSE é capaz de melhorar a função sudomotora<sup>(14)</sup>. Assim, a avaliação da função sudomotora poderá constituir, em doentes selecionados, uma ferramenta de monitorização da resposta à terapêutica.

Este estudo exhibe várias limitações. Em primeiro lugar, o tamanho da amostra é pequeno. Considero que para este fator contribuíram a baixa prevalência da doença bem como a duração da colheita de dados e aplicação dos *Neuropad*®. A amostra pequena afeta a análise estatística em termos de poder estatístico para detetar diferenças estatisticamente significativas entre grupos, bem como a análise de correlação.

Complementarmente, não foi realizada a comparação dos resultados com um teste *standard* de avaliação da função sudomotora, nomeadamente o *Sudoscan*®. Adicionalmente, não existiu um grupo de controlo com características demográficas semelhantes sem disfunção sudomotora de qualquer causa. Por fim, o desenho do estudo (*cross-sectional*) não permite avaliar o valor da avaliação da função sudomotora ao longo do tempo, quer na monitorização dos doentes quer na avaliação da resposta à TSE.

## **Conclusões**

A hipohidrose é um sintoma comum, precoce e debilitante da DF. Adicionalmente, a ausência deste sintoma não é sinónimo de capacidade de suar mantida. Por conseguinte, são necessários métodos de avaliação desta manifestação clínica de forma objetiva e, simultaneamente, simples e acessível. Os testes de função sudomotora podem, de igual modo, atuar como mecanismos de monitorização de resposta à TSE uma vez que estes detetam melhorias antes de serem clinicamente evidentes. Em conclusão, o *Neuropad*® em associação com o *Sudometrics*® poderão constituir, no futuro, uma ferramenta na marcha diagnóstica e na monitorização na DF.

## **Perspetivas futuras**

Assim, de acordo com os resultados obtidos, pretende-se, em primeiro lugar, aumentar a amostra. Primariamente através de um período mais duradouro de recrutamento de doentes e, posteriormente, com a colaboração de outros centros de referência na avaliação e seguimento de doentes com DF.

Com o intuito de validar o *Neuropad*® como teste diagnóstico para diagnóstico de disfunção sudomotora será, também, necessário comparar os resultados obtidos com um grupo de controlo saudável. Futuramente, será possível comparar os resultados do *Neuropad*® com um dos testes clássicos de função sudomotora, o *Sudoscan*®, que existe no Serviço de Neurologia do mesmo centro hospitalar, com o qual já foi iniciada uma colaboração.

Finalmente, com a finalidade de validar o *Neuropad*® como ferramenta de monitorização da doença e da resposta à terapêutica com TSE ou *chaperones* será necessário realizar uma avaliação longitudinal dos doentes recrutados.



## **Agradecimentos**

Este trabalho não teria sido possível sem a ajuda, direta ou indiretamente, de muitas pessoas.

Em primeiro lugar, agradeço ao Dr. Patrício Aguiar, o meu orientador, pela sua constante disponibilidade, dedicação e rigor. Sem o qual não teria sido possível projetar, realizar e analisar este projeto.

Em segundo lugar, ao Professor Doutor Ducla Soares, uma vez que sem a sua orientação não teria conhecido o Dr. Patrício Aguiar e não teria realizado a minha primeira colaboração numa investigação clínica.

Agradeço ao Diogo, pela ininterrupta paciência, suporte e amor, que tornaram esta experiência da faculdade muito mais rica e feliz.

Ainda, às minhas amigas da faculdade, que tiveram um papel essencial em todo o meu percurso, que estiveram comigo desde a primeira até à última aula.

Por último agradeço à minha família, pelo apoio, dedicação e amor que me dão desde que me lembro que existo.

## **Bibliografia**

1. Germain, D. P. (2010). Fabry disease. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 5:30.
2. Møller, A. T., Bach, F. W., Feldt-Rasmussen, U., Rasmussen, A. K., Hasholt, L., Sommer, C., Kølvrå, S., Jensen, T. S. (2009). Autonomic skin responses in females with fabry disease. *Journal of the Peripheral Nervous System*, 14:159–164.
3. Spada, M., Pagliardini, S., Yasuda, M., Tükel, T., Thiagarajan, G., Sakuraba, H., Ponzzone, A., Desnick, R. J. (2006). High Incidence of Later-Onset Fabry Disease Revealed by Newborn Screening. *The American Journal of Human Genetics*, 79:31–40.
4. Hwu, W., Chien, Y., Lee, N., Chiang, S., Dobrovolny, R., Huang, A., Yeh, H., Chao, M., Lin, S., Kitagawa, T., Hsu, L. (2009). Newborn Screening for Fabry Disease in Taiwan Reveals a High Incidence of the Later-Onset GLA Mutation. *Human Mutation*, 30:1397-1405.
5. Echevarria, L., Benistan, K., Toussaint, A., Dubourg, O., & Hagege, A. A., Eladaryl, D., Jabbour, F., Beldjord, C., Mazancourt, P., Germain, D. (2016). X-chromosome inactivation in female patients with Fabry disease. *Clinical Genetics*, 89:44–54.
6. Jung, S. E., & Kim, Y. C. (2015). Hypohidrosis: An early clue in the diagnosis of Fabry disease. *Clinical and Experimental Dermatology*, 40:444–445.
7. Politei, J., Durand, C., Schenone, A. (2016). Small Fiber Neuropathy in Fabry Disease: a Review of Pathophysiology and Treatment. *Journal of Inborn Errors of Metabolism & Screening*, 4:1-5.
8. Hilz, M. (2002). Evaluation of peripheral and autonomic nerve function in Fabry disease. *Acta Paediatrica Supplement*, 439: 38-42.
9. Biegstraaten, M., Schaik, I., Wieling, W., Wijburg, F., Hollak, C. (2010). Autonomic Neuropathy in Fabry disease: prospective study using Autonomic Symptom Profile and cardiovascular autonomic function tests. *BMC Neurology*, 10:38.
10. Van der Tol, L., Smid, B., Poorthuis, B., Biegstraaten, M., Deprez, R., Linthorst, G., Hollak, C. (2014). A systematic review on screening for Fabry disease: prevalence of individuals with genetic variants of unknown significance. *Journal of Medical Genetics*, 51:1-9.
11. Wilcox, W., Oliveira, J., Hopkin, R., Ortiz, A., Banikamezi, M., Feldt-Rasmussen, U., Sims, K., Waldek, S., Pastores, G., Lee, P., Eng, C., Marodi, L., Stanford, K., Breunig, F., Wanner, C., Warnock, D., Lemay, R., Germain, D. (2008). Females with

- Fabry disease frequently have major organ involvement: Lessons from the Fabry Registry. *Molecular Genetics and Metabolism*, 93:112-128.
12. Sahuc, P., Chiche, L., Dussol, B., Pouget, J., & Franques, J. (2016). Sudoscan as a noninvasive tool to assess sudomotor dysfunction in patients with fabry disease: Results from a case-control study. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 12:135-138.
  13. Ries, M., Ramaswami, U., Parini, R., Lindblad, B., Whybra, C., Willers, I., Gal, A., Beck, M. (2003). The early clinical phenotype of Fabry disease: a study on 35 European children and adolescents. *European Journal of Pediatrics*, 162: 767-772.
  14. Schiffmann, R. (2006). Neuropathy and Fabry disease: pathogenesis and enzyme replacement therapy. *Acta Neurologica Belgica*, 106:61-65.
  15. Üçeyler, N., He, L., Schönfeld, D., Kahn, A. K., Reiners, K., Hilz, M. J., Breunig, F., Sommer, C. (2011). Small fibers in Fabry disease: Baseline and follow-up data under enzyme replacement therapy. *Journal of the Peripheral Nervous System*, 16:304-314.
  16. Warnock, D., Thomas, C., Vujkovic, B., Campbell, R., Charrow, J., Laney, D., Jackson, L., Wilcox, W., Wanner, C. (2015). Antiproteinuric therapy and Fabry nephropathy: factors associated with preserved kidney function during agalsidase-beta therapy. *Journal of Medical Genetics*, 52:860-866.
  17. Keating, G. (2012). Agalsidase alfa. *Biodrugs*, 26: 335-354.
  18. Hughes, D., Deegan, P., Milligan, A., Wright, N., Butler, L., Jacobs, A., Mehta, A. (2013). A randomised, double-blind, placebo-controlled, crossover study to assess the efficacy and safety of three dosing schedules of agalsidase alfa enzyme replacement therapy for Fabry disease. *Molecular Genetics and Metabolism*, 109:269-275.
  19. Ramaswami, U., Wendt, S., Pintos-Morell, G., Parini, R., Whybra, C., Leal, J., Santus, F., Beck, M. (2007). Enzyme replacement therapy with agalsidase alfa in children with Fabry disease. *Acta Paediatrica*, 96: 122-127.
  20. Ries, M., Clarke, J., Whybra, C., Timmons, M., Robinson, C., Schlaggar, B., Pastores, G., Lien, Y., Kampmann, C., Brady, R., Beck, M., Schiffmann, R. (2006). Enzyme replacement therapy with agalsidase alfa in children with Fabry disease. *Pediatrics*, 118:924-932.
  21. Ponirakis, G., Petropoulos, I. N., Fadavi, H., Alam, U., Asghar, O., Marshall, A., Tavakoli, M., Malik, R. A. (2014). The diagnostic accuracy of Neuropad® for assessing large and small fibre diabetic neuropathy. *Diabetic Medicine*, 31:1673-1680.

22. Illigens, B. M. W., & Gibbons, C. H. (2009). Sweat testing to evaluate autonomic function. *Clinical Autonomic Research*, 19:79–87.
23. Tsapas, A., Liakos, A., Paschos, P., Karagiannis, T., Bekiari, E., Tentolouris, N., & Boura, P. (2014). A simple plaster for screening for diabetic neuropathy: A diagnostic test accuracy systematic review and meta-analysis. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 63:584–592.
24. Ponirakis, G., Fadavi, H., Petropoulos, I. N., Azmi, S., Ferdousi, M., Dabbah, Kheyami, A., Alam, U., Asghar, O., Marshall, A., Tavakoli, M., Al-Ahmar, A., Javed, S., Jeziorska, M., Malik, R. (2015). Automated quantification of Neuropad improves its diagnostic ability in patients with diabetic neuropathy. *Journal of Diabetes Research*, 2015:7
25. Zilliox, L., Peltier, A., Wren, P., Anderson, A., Smith, A., Singleton, J., Feldman, E., Alexander, N., Russel, J. (2011). Assessing autonomic dysfunction in early diabetic neuropathy. *Neurology*, 76: 1099-1105.
26. Kampmann, W., Krummenauer, F., Ries, M., Mengel, E., Miebach E., Baehner F., Kim, K., Bajbouj, M., Schawarting, A., Gal, A., Beck, M. (2004). The Mainz Severity Score Index: a new instrument for quantifying the Anderson-Fabry disease phenotype, and the response of patients to enzyme replacement therapy. *Clinical Genetics*, 65:299-307.
27. Huges, D., Malmeñas, M., Deegan, P., Elliott, P., Ginsberg, L., Hajioff, D., Ioannidis, A., Orteu, C., Ramaswami, U., West, M., Pastores, G., Jenkinson, C. (2012) Fabry International Prognosis Index: a predictive severity score for Anderson-Fabry disease. *Journal of Medical Genetics*, 49:212-220.

## **Anexos**

### **Anexo 1**

#### **Formulário avaliação de sintomas autonómicos**

	Sintomas < 6 meses		Gravidade				
	Sim	Não	1	2	3	4	5
Sensação de “cabeça vazia”							
Xerostomia ou xeroftalmia							
Palidez ou cianose dos pés							
Pés mais frios do que o resto do corpo							
Menor sudorese nos pés do que no resto do corpo							
Diminuição ou ausência de sudação nos pés após exercício ou com o calor							
Maior sudorese nas mãos do que no resto do corpo							
Náuseas, vômitos ou enfartamento após refeição ligeira							
Diarreia (mais do que 3 dejeções/dia)							
Obstipação (menor do que uma dejeção a cada 2 dias)							
Incontinência urinária							
Disfunção erétil (género masculino)							

SS \_\_\_\_\_

TSIS \_\_\_\_\_

## Anexo 2

### Formulário de Recolha de Dados do Doente

Nome (iniciais) \_\_\_\_\_ Número no estudo \_\_\_\_\_

Idade \_\_\_\_\_ Género \_\_\_\_\_ Idade do diagnóstico \_\_\_\_\_

Atividade da  $\alpha$ -galactosidase \_\_\_\_\_ Mutação GLA \_\_\_\_\_

Hemoglobina A1c \_\_\_\_\_

Fenótipo: clássico vs atenuado

*Mainz Severity Score Index* \_\_\_\_\_ *Fabry International Prognostic Index* \_\_\_\_\_

TFGe \_\_\_\_\_

Sintomas autonómicos:

SS \_\_\_\_\_

*TSIS* \_\_\_\_\_

Terapêutica de reposição enzimática: Sim ☐ Não ☐

_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

Resultados:

Sudometrics®(Neuropad®)

mão esquerda: \_\_\_\_\_ mão direita: \_\_\_\_\_

pé esquerdo: \_\_\_\_\_ pé direito: \_\_\_\_\_